



UDC 636.52/58.09:616.993.192.1:613.1

Influence of abiotic factors on vitality and development of exogenous stages - oocysts of *Eimeria* birds

P.V. Lulin

Kharkiv State Veterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 12.04.2020

Received in revised form

14.05.2020

Accepted

20.05.2020

Kharkiv State Veterinary
Academy,
1, Academichna Str., Mala
Danylivka, Dergachi district,
Kharkiv region, Ukraine,
62341

E-mail: liulinpetr@gmail.com

Lulin, P. V. (2020). Influence of abiotic factors on vitality and development of exogenous stages - oocysts of *Eimeria* birds. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 81-84. DOI: 10.31890/vttp.2020.05.15

*Modern high-tech and sanitary-hygienic support for the poultry industry is impossible without therapeutic and preventive measures against eimeriosis. Today, the focus is on the fight against the endogenous stages of the development of *Eimeria* in the body of birds with the help of a huge arsenal of chemicals or immunoprophylaxis.*

*To destroy the exogenous stages of the development of *Eimeria* - oocysts in the external environment the number of disinfecting substances is quite small. The effect of abiotic factors on the development and viability of pathogens - *Eimeria* oocysts has not been fully studied.*

*Objective. To determine the influence of abiotic factors (temperature, humidity) on the viability and development of oocysts of *Eimeria* birds.*

*The studies were carried out in the laboratory of the Department of Parasitology of Kharkiv State Zooveterinary Academy in vitro, using conventional flotation and microscopic research methods. Material for the study was selected from patients experimentally invaded by chicken eimeriosis during defecation. Feces were studied by the Fulleborn flotation method, feces samples were placed in Petri dishes, kept in a thermostat at +18, + 20 ° C. The drying process (moisture loss) was monitored by weighing, and the development and viability of *Eimeria* oocysts were microscopical. The counting of the number of non-sporulated and sporulated oocysts in 1 g of feces using a Goryaev camera was carried out.*

*As a result of the study, it was found that the drying of feces negatively affects the development and viability of bird *Eimeria* oocysts. With a decrease in moisture of 31.97 ± 1.24% and 41.67 ± 0.47% in feces, respectively, from 65.8 ± 0.7 to 80.6 ± 0.9% oocysts die, and with moisture loss of 65, 48 ± 1.35% and 70.9 ± 1.2% and from 91.4 ± 0.7% to 100% *Eimeria* oocysts die.*

Keywords: chickens, *Eimeria* oocysts, abiotic factor.

Влияние абиотических факторов на жизнеспособность и развитие экзогенных стадий – ооцист эймерий птиц

П. В. Люлин

Харьковская государственная зооветеринарная академия, Харьков, Украина

Современное высокотехнологическое и санитарно-гигиеническое обеспечение отраслей птицеводства невозможно без проведения лечебно-профилактических мероприятий против эймериозов. Сейчас основное внимание в борьбе с эндогенными стадиями развития эймерии в организме птиц уделяется огромному арсеналу химических препаратов или иммунопрофилактике.

Для уничтожения экзогенных стадий развития эймерий – ооцист во внешней среде существует незначительное число дезинвазирующих веществ. В полном объеме не изучено влияние абиотических факторов на развитие и жизнеспособность возбудителей – ооцист эймерий.

*Объект исследований. Свежевыделенные фекалии кур содержащие ооцисты эймерий *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. brunetti*.*

Цель работы. Определить влияние абиотических факторов (температуры, влажности) на жизнеспособность и развитие ооцист эймерий птиц.

Исследования проводили в лаборатории кафедры паразитологии Харьковской государственной зооветеринарной академии in vitro, использовали общепринятые флотационные и микроскопические методы

исследования. Материал для исследования отбирали от больных, экспериментально инвазированных эймериозом кур во время дефекации. Фекалии исследовали флотационным методом Фюллеборна, пробы фекалий помещали в чашки Петри, выдерживали в термостате при +18, +20°C. Процесс высушивания (потери влаги) контролировали путем взвешивания, а развитие и жизнеспособность ооцист эймерий микроскопически, подсчитывая количество неспорированных и спорированных ооцист в 1 г фекалий с помощью камеры Горяева.

В результате исследования установлено, что высушивание фекалий отрицательно влияет на развитие и жизнеспособность ооцист эймерий птиц. При снижении влаги на $31,97 \pm 1,24\%$ и $41,67 \pm 0,47\%$ в фекалиях погибает соответственно от $65,8 \pm 0,7$ до $80,6 \pm 0,9\%$ ооцист, а при потерях влаги $65,48 \pm 1,35\%$ и $70,9 \pm 1,2\%$ погибает от $91,4 \pm 0,7\%$ до 100% ооцист эймерий.

Ключевые слова: куры, ооцисты эймерий, абиотические факторы.

Вплив абиотичних факторів на життєздатність і розвиток екзогенних стадій – ооцист еймерій птахів

П. В. Люлін

Харківська державна зооветеринарна академія

Наведені результати експериментальних досліджень *in vitro* впливу абиотичних факторів (температури, вологості) на розвиток і життєздатність ооцист еймерій курей. При зниженні вологості фекалій на $31,97\% \pm 1,24\%$ та $41,67 \pm 0,47\%$ гине відповідно від $65,8 \pm 0,7$ до $80,6 \pm 0,9\%$ ооцист еймерій, а при втратах вологи $65,48 \pm 1,35\%$ і $70,9 \pm 1,2\%$ гине від $91,4 \pm 0,7\%$ до 100% ооцист еймерій.

Ключові слова: кури, ооцисти еймерій, абиотичні фактори.

Вступ

Актуальність теми: Однією з найактуальніших проблем сучасного промислового птахівництва є хвороби, збудниками яких є найпростіші типу *Apicomplexa*, ряду *Coccidiida*, родини *Eimeriidae*, роду *Eimeria*. Чимало дослідників вважають, що безеймеріозне утримання птиці неможливе навіть за високотехнологічного, санітарно-гігієнічного забезпечення галузі і суворого дотримання ветеринарних правил (Kirillov, & Kadnikova, 1988; Marshalkina, Zaikina, & Kovalenko, 2010; Yatusovich, 1992), що пояснюється високим відтворним потенціалом еймерії і тривалим збереженням збудників – ооцист еймерій в зовнішньому середовищі (Dubey, & Jenkins, 2018; Great, Henken, Ploeger, Noordhuizen, & Vertommen, 2009). На сьогодні в комплексі оздоровчих та профілактичних заходів боротьби з еймеріозами птахів, основна увага спрямована на попередження заносу збудників, проведення лікувально-профілактичних обробок птиці за допомогою значного арсеналу (більше 1000 хімічних сполук) препаратів, що пригнічують або знищують ендогенні стадії розвитку еймерій в організмі птиці (Kirillov, & Kadnikova, 1988; Marshalkina, Zaikina, & Kovalenko, 2010; Yatusovich, 1992; Haug, Gjevre, Thebo, Mattsson, & Kaldhusdal, 2008; Quiroz-Castañeda, & Dantán-González, 2015) та імунізації (Ahmadab, El-Sayed, & El-Sayed, 2016; Williams, 2002). Але вказані вище способи не забезпечують повного подолання хвороби, адже хворі птахи та птахи, що перехворіли – паразитоносії та виділяють у зовнішнє середовище з фекаліями збудників еймеріозів – ооцист еймерій, які довготривалий час (до року) можуть зберігатись у навколишньому середовищі і становити загрозу для вразливих птахів (Kovalenko, Yakubchak, Adamenko, & Yaschenko, 2010).

Тому разом з проведенням заходів із знешкодження ендогенних стадій (в організмі птахів) виникає необхідність боротьби і з екзогенними (у зовнішньому середовищі) стадіями розвитку еймерій – неспорированими та спорированими ооцистами. Важливе значення в цьому має дезінвазія – система заходів, спрямована на знешкодження інвазійного початку – ооцист еймерій у зовнішньому середовищі (Kociumbas, Sergienko, & Kovalchik, 2010; Polyakov, 1960).

Аналіз основних досліджень і публікацій.

Аналіз літературних джерел свідчить про те, що однією з причин широкого розповсюдження еймеріозів птахів і складності боротьби з ними є надзвичайна плодовитість збудників. Одна ооциста еймерій здатна давати потомство від 400 тис. до 2,5 млн. особин (Wallach, Smith, Petracca, Miller, Eckert, & Braun, 1995; Remmal, Achahbar, Bouddine, Chami, & Chami, 2013). Як відомо, у зовнішньому середовищі ооцисти еймерій після виходу з організму хворих птахів (неспорировані) за наявності сприятливих умов – вологи, кисню і позитивних температур (оптимальна $+26$ – $+28$ °C) проходять споруляцію і в спорированому вигляді можуть довготривалий час, протягом 1 року, за деякими авторами і більше, зберігати свою життєздатність (Dantán-González et al., 2015; Mai et al., 2009). Спорировані ооцисти здатні зимувати, витримувати 3 – 5 кратне і більше заморожування та розморожування за температури – 25 – 30 °C. Надзвичайна стійкість ооцисти еймерій обумовлена наявністю добре розвиненої захисної оболонки, яка виконує роль механічного і хімічного захисту, тому ооцисти еймерій здатні довготривалий час зберігатись у зовнішньому середовищі і протистояти звичайним дезінфікуючим засобам NaOH, навіть у концентрації 10% за температури $+20$ °C тощо. Але, як зазначають дослідники (Paliy, & Zavorodnii, 2011; Zavorodnii, Pavlenko, & Lutsenko, 2005; Zavorodnii, Stegnyy, & Paliy, 2013); ооцисти еймерій чутливі до високих температур $+70$ °C і більше та висушування. Тому, для дезінфекції рекомендують використовувати гарячі $+70$ – $+80$ °C звичайні дезінфікуючі засоби, кип'яток або полум'я. Таким чином, удосконалення діючих і пошук нових ефективних, екологічно безпечних, дешевих, простих і доступних для застосування засобів і способів знищення ооцист еймерій у зовнішньому середовищі є надзвичайно актуальною проблемою.

Мета роботи. Метою роботи було визначення життєздатності ооцист еймерій птахів – курей за дії факторів зовнішнього середовища – висушування субстрату (фекалій).

Завдання досліджень. Дослідити залежність ступеня висихання фекалій на життєздатність ооцист еймерій.

Матеріали і методи досліджень

Експериментальні дослідження щодо впливу абіотичних факторів на життєздатність і розвиток ооцист еймерій птахів були проведені *in vitro* в лабораторії кафедри паразитології Харківської державної зооветеринарної академії. Матеріалом для дослідження слугували проби фекалій, які відбирали індивідуально під час дефекації від експериментально інвазованих еймеріозом курей спорувованою культурою ооцист еймерій в дозі по 1000 ооцист, що містила такі види: *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. brunetti*. Загальна кількість досліджуваних проб становила 30. Проби фекалій поділили на групи – дві дослідних (по 10 проб) і контрольну, та, попередньо визначивши їх масу, поміщали в чашки Петрі. Проби фекалій першої дослідної групи витримували в термостаті за температури +18 °С, другої дослідної групи за температури +20 °С, а до проб фекалій групи контролю додавали 2,5% розчин біхромату калію, який вносили в чашки Петрі на 0,5 см їх висоти, щоб фекалії були повністю зволожені зазначеним розчином. Відбір досліджуваних проб і їх аналіз здійснювали флотатійним методом Фюллеборна, кількість ооцист

еймерій підраховували в 1 г фекалій за допомогою камери Горяєва під мікроскопом «Біолам» (збільшення 8x10). Контроль розвитку ооцист здійснювали мікроскопічно, шляхом підрахунку неспорувованих і спорувованих ооцист. Контроль втрати вологи здійснювали методом зважування перед початком і протягом 10 діб досліду щоденно за допомогою електронних ваг (Electronic pocket scale, model 6000). Температуру в термостаті контролювали термометром, відносну вологість повітря – гігрометром. Статистичну обробку проводили з використанням електронних баз.

Результати і їх обговорення

При дослідженні втрат вологи за температури +18 °С та +20 °С із фекалій за перші 3 доби вологість фекалій відповідно склала 31,97 % ± 1,24 % та 41,67 ± 0,47 %. Кількість неспорувованих ооцист еймерій за +18 °С зменшилась до 234,7 ± 31,7 %, а спорувованих 281 ± 44,33 % в 1 г фекалій. За температури +20 °С кількість неспорувованих ооцист склала 110,3 ± 37,21 %, а спорувованих 179,7 ± 43,58 %, що значно нижче за показники групи контролю (таблиця 1).

Таблиця 1

Динаміка загибелі ооцист еймерій в залежності від втрат вологи (дослід *in vitro*) (n=30, M±m)

Дні досліджень	Показники		1 дослідна гр. (t +18°)	2 дослідна гр. (t +20°)	Контрольна група
Початок досліджень	% втрати вологи		—	—	—
	К-ть ооцист в 1 г фек	спорувованих	—	—	—
		неспорувованих	1504 ± 62,4	1485 ± 63,5	1550 ± 61,3
3 доби	% втрати вологи		31,97 ± 1,24	41,67 ± 0,47	—
	К-ть ооцист в 1 г фек	спорувованих	281 ± 44,33	179,7 ± 43,58	960 ± 65,6
		неспорувованих	234,7 ± 31,7	110,3 ± 37,21	688 ± 57,8
5 діб	% втрати вологи		52,98 ± 1,05	66,51 ± 1,86	—
	К-ть ооцист в 1 г фек	спорувованих	147,3 ± 34,5	61,33 ± 9,33	1490 ± 63,6
		неспорувованих	—	—	—
8 діб	% втрати вологи		65,48 ± 1,35	70,9 ± 1,2	—
	К-ть ооцист в 1 г фек	спорувованих	39,3 ± 4,58	—	1490 ± 64,2
		неспорувованих	—	—	—
10 діб	% втрати вологи		67,84 ± 1,73	72,57 ± 1,91	—
	К-ть ооцист в 1 г фек	спорувованих	13,5 ± 2,12	—	1490 ± 64,2
		неспорувованих	—	—	—

На 5 добу досліджень за температури +18 °С вологість фекалій зменшилась на 52,98 ± 1,05 %, а за +20 °С на 66,51 ± 1,86 %, що привело до значного зменшення кількості ооцист еймерій відповідно до 147,3 ± 34,5 та 61,33 ± 9,33 спорувованих ооцист в 1 грамі фекалій.

На 8 добу спостережень зберігалася вищезазначена тенденція до зменшення кількості ооцист в грамі фекалій та втрат вологи. На 10 добу досліду за температури +18 °С у фекаліях було втрачено 67,84 ± 1,73 % вологи, при цьому вміст в 1 грамі фекалій склав 13,5 ± 2,12 спорувованих ооцист. За температури +20 °С втрата вологи була більшою – 72,57 ± 1,91 % морфологічно цілісних ооцист еймерій в 1 грамі фекалій на 8 та 10 добу досліджень за вказаної температури не виявлялось.

Паралельно з цим у групі контролю – фекалії зволожені 2,5% розчином біхромату калію – кількість ооцист в 1 грамі фекалій була практично незмінною.

Таким чином, отримані нами результати досліджень щодо зменшення кількості ооцист еймерій у фекаліях узгоджуються з даними літератури Mc Dougal L.P. (2003) штата Айова і підтверджують той факт, що гігієнічні умови, а саме висушування підстилки і фекалій мінімізує інвазованість птиці еймеріозом бо значно зменшує кількість спорувованих ооцист.

Висновки

1. Висушування субстрату – фекалій – згубно впливає на розвиток та життєздатність ооцист еймерій.

2. Втрати вологи у фекаліях в межах 31,97 ± 1,24 та 41,67 ± 0,47 приводять до значного зменшення і загибелі ооцист еймерій.

3. За втрат вологи у фекаліях більше за 70% ооцисти еймерій втрачають свою життєздатність.

References

- Ahmadab, T. A., El-Sayed, B. A., & El-Sayed, L. H. (2016). Development of immunization trials against *Eimeria* spp. *Trials in Vaccinology*, 5, 53-60. DOI: [10.1016/j.trivac.2016.02.001](https://doi.org/10.1016/j.trivac.2016.02.001)
- Dantán-González, E., Quiroz-Castañeda, R. E., Cobaxin-Cárdenas, M., Valle-Hernández, J., Gama-Martínez, Y., Tinoco-Valencia, J. R., Serrano-Carreón, L., & Ortiz-Hernández, L. (2015). Impact of *Meyerozyma guilliermondii* isolated from chickens against *Eimeria* sp. protozoan, an *in vitro* analysis. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 1-11. DOI: [10.1186/s12917-015-0589-0](https://doi.org/10.1186/s12917-015-0589-0)
- Dovidnyk likaria veterynarnoi medytsyny.* (2004). Kyiv : Urozhai.
- Dubey, J. P., & Jenkins, M. C. (2018). Re-evaluation of the life cycle of *Eimeria maxima* Tyzzer, 1929 in chickens

- (*Gallus domesticus*). *Parasitology*, 145(8) 1051-1058. DOI: [10.1017/S0031182017002153](https://doi.org/10.1017/S0031182017002153)
- Great, E. A. M., Henken, A. M., Ploeger, H. W., Noordhuizen, J. P. T. M., & Vertommen, M. H. (1994). Rate and course of sporulation of oocysts of *Eimeria acervulina* under different environmental conditions. *Parasitology*, 108(5), 497-502. DOI: [10.1017/s0031182000077350](https://doi.org/10.1017/s0031182000077350)
- Haug, A., Gjevre, A. G., Thebo, P., Mattsson, J. G., & Kaldhusdal, M. (2008). Coccidial infections in commercial broilers: epidemiological aspects and comparison of *Eimeria* species identification by morphometric and polymerase chain reaction techniques. *Avian Pathology*, 37, 161-170. DOI: [10.1080/03079450801915130](https://doi.org/10.1080/03079450801915130)
- Kirilov, A. I., & Kadnikova, G. F. (1988). Chemicals for the destruction of oocysts of coccidia of hens in the environment and assessment of their coccidia activity. *Modern means and methods of combating infectious diseases of agricultural birds*, 103-108. [in Ukrainian]
- Kociumbas, I. Y., Sergienko, O. I., & Kovalchik, L. M. (2010). Suchasni zasoby veterynarnoi dezinfekcii [Modern veterinary disinfection]. *Veterynarna medycyna Ukrainy*, 1, 36-38 [in Ukrainian]
- Kovalenko, V. L., Yakubchak, O. M., Adamenko, L. V., & Yaschenko, M. F. (2010). *Veterynarna dezinfektsiya. Instruktsiya ta metodychni rekomendatsiy* [Veterinary disinfection. Instruction and methodical recommendations]. Kiev: Bioprom [in Ukrainian]
- Mai, K., Sharman, P. A., Walker, R. A., Katrib, M., Souza, D., McConville, ... Smith, N. C. (2009). Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(2), 281-289. DOI: [10.1590/S0074-02762009000200022](https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000200022)
- Marshalkina, T. V., Zaikina, H. V., & Kovalenko, I. I. (2010). Monitorynh invaziynykh khvorob sviiskoi ptytsi v hospodarstvakh Stepovoi zony Ukrainy. *Mizhvidomchyi tematychnyi medytsyna*, 93, 271-275. [in Ukrainian]
- Paliy, A. P., & Zavhorodnii, A. I. (2011). Suchasni problemy dezinfektolohii ta shliakhy yikh vyrishennia [Modern problems of disinfectology and ways of their solution]. *Naukovyi visnyk Luhanskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Serija: Veterynarni nauky – Scientific herald of the Lugansk National Agrarian University. Series: Veterinary Science*, 31, 110-113. [in Ukrainian]
- Paliy, A. P., Ishchenko, K. V., Marchenko, M. V., Paliy, A. P. & Dubin, R. A. (2018). Effectiveness of aldehyde disinfectant against the causative agents of tuberculosis in domestic animals and birds. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2018, 8(1), 845–850. DOI: [10.15421/2018_283](https://doi.org/10.15421/2018_283)
- Paliy, A. P., Zavgorodnii, A. I., Stegnyy, B. T., & Gerilovych, A. P. (2015). 'A study of the efficiency of modern domestic disinfectants in the system of TB control activities'. *Agricultural Science and Practice*, 2(2), 26-31. DOI: [10.15407/agrisp2.02.026](https://doi.org/10.15407/agrisp2.02.026)
- Polyakov, A. A. (1960). *Veterinarnaya dezinfektsiya [Veterinary disinfection]*. Moscow: State publishing house of agricultural literature [in Russian].
- Quiroz-Castañeda, R. E., & Dantán-González, E. (2015). Control of avian coccidiosis: Future and present natural alternatives. *BioMed Research International*, 11. Article ID: 430610. DOI: [10.1155/2015/430610](https://doi.org/10.1155/2015/430610)
- Remmal, A., Achahbar, S., Bouddine, L., Chami, F., & Chami, N. (2013). Oocysticidal effect of essential oil components against chicken *Eimeria* oocysts. *International Journal of Veterinary Sciences and Medicine*, Article ID: 599816. DOI: [10.5171/2013.599816](https://doi.org/10.5171/2013.599816)
- Wallach, M., Smith, N. C., Petracca, M., Miller, C.,M.,D., Eckert, J., & Braun, R. (1995). *Eimeria maxima* gametocyte antigens: Potential use in a subunit maternal vaccine against coccidiosis in chickens. *Vaccine*, 13(4), 347-354. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0264410X95982559>
- Williams, R. B. (2002). Anticoccidial vaccines for broiler chickens: Pathways to success. *Avian Pathology*, 1, 31(4), 317-353. DOI: [10.1080/03079450220148988](https://doi.org/10.1080/03079450220148988)
- Yatusevich, A. I. (1992). *Recommendations for the fight against eimeriosis and isosporosis of animals*. Moskva.
- Zavgorodnii, A. I., Pavlenko, S. V., & Lutsenko, L. (2005). *Testing and application of disinfection and disinfestation in veterinary medicine*.
- Zavgorodnii, A. I., Stegnyy, B. T. & Paliy, A. P. (2013). *Naukovi ta praktychni aspekty dezinfektsii u veterynarniy medytsyni [Scientific and practical aspects of disinfection in veterinary medicine]*. Kharkiv: FOP O.V. Brovin. [in Ukrainian]